



**PCT** WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM  
Internationales Büro  
INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE  
INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

<b>(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup> :</b> <b>C07B 61/00, C07K 1/04, C07D 473/34</b>	<b>A1</b>	<b>(11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/43232</b> <b>(43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 20. November 1997 (20.11.97)</b>
<b>(21) Internationales Aktenzeichen:</b> PCT/EP97/02387 <b>(22) Internationales Anmeldedatum:</b> 9. Mai 1997 (09.05.97)  <b>(30) Prioritätsdaten:</b> 196 19 373.7      14. Mai 1996 (14.05.96)      DE  <b>(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US):</b> HOECHST AKTIENGESELLSCHAFT [DE/DE]; Brüningstrasse 50, D-65929 Frankfurt am Main (DE).  <b>(72) Erfinder; und</b> <b>(75) Erfinder/Anmelder (nur für US):</b> MICULKA, Christian [DE/DE]; Gebeschusstrasse 36, D-65929 Frankfurt am Main (DE). WINDHAB, Norbert [DE/DE]; Akazienstrasse 28, D-65795 Hattersheim (DE). QUINKERT, Gerhard [DE/DE]; Schauinsland 32, D-61479 Glashütten (DE). ESCHENMOSER, Albert [CH/CH]; Bergstrasse 9, CH-8700 Küsnacht (CH).		<b>(81) Bestimmungsstaaten:</b> AU, CA, JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).  <b>Veröffentlicht</b> <i>Mit internationalem Recherchenbericht. Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.</i>
<b>(54) Title:</b> NOVEL SUBSTANCE LIBRARY AND SUPRAMOLECULAR COMPLEXES PRODUCED THEREWITH <b>(54) Bezeichnung:</b> NEUE SUBSTANZBIBLIOTHEK UND DAMIT HERGESTELLTE SUPRAMOLEKULARE KOMPLEXE  <b>(57) Abstract</b> <p>The invention relates to a substance library, a process for the production thereof, a process for the production of supramolecular complexes using said substance library, the use of said supramolecular complexes produced using the substance library, and the use of the substance library itself.</p> <b>(57) Zusammenfassung</b> <p>Die vorliegende Erfindung betrifft eine Substanzbibliothek, ein Verfahren zu deren Herstellung, ein Verfahren zur Herstellung von supramolekularen Komplexen unter Verwendung dieser Substanzbibliothek und die Verwendung der mittels der Substanzbibliothek hergestellten supramolekularen Komplexe sowie die Verwendung der Substanzbibliothek selbst.</p>		

# **LEDIGLICH ZUR INFORMATION**

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AL	Albanien	ES	Spanien	LS	Lesotho	SI	Slowenien
AM	Armenien	FI	Finnland	LT	Litauen	SK	Slowakei
AT	Österreich	FR	Frankreich	LU	Luxemburg	SN	Senegal
AU	Australien	GA	Gabun	LV	Lettland	SZ	Swasiland
AZ	Aserbaidshan	GB	Vereinigtes Königreich	MC	Monaco	TD	Tschad
BA	Bosnien-Herzegowina	GE	Georgien	MD	Republik Moldau	TG	Togo
BB	Barbados	GH	Ghana	MG	Madagaskar	TJ	Tadschikistan
BE	Belgien	GN	Guinea	MK	Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien	TM	Turkmenistan
BF	Burkina Faso	GR	Griechenland	ML	Mali	TR	Türkei
BG	Bulgarien	HU	Ungarn	MN	Mongolei	TT	Trinidad und Tobago
BJ	Benin	IE	Irland	MR	Mauretanien	UA	Ukraine
BR	Brasilien	IL	Israel	MW	Malawi	UG	Uganda
BY	Belarus	IS	Island	MX	Mexiko	US	Vereinigte Staaten von Amerika
CA	Kanada	IT	Italien	NE	Niger	UZ	Usbekistan
CF	Zentralafrikanische Republik	JP	Japan	NL	Niederlande	VN	Vietnam
CG	Kongo	KE	Kenia	NO	Norwegen	YU	Jugoslawien
CH	Schweiz	KG	Kirgisistan	NZ	Neuseeland	ZW	Zimbabwe
CI	Côte d'Ivoire	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	PL	Polen		
CM	Kamerun	KR	Republik Korea	PT	Portugal		
CN	China	KZ	Kasachstan	RO	Rumänien		
CU	Kuba	LC	St. Lucia	RU	Russische Föderation		
CZ	Tschechische Republik	LI	Liechtenstein	SD	Sudan		
DE	Deutschland	LK	Sri Lanka	SE	Schweden		
DK	Dänemark	LR	Liberia	SG	Singapur		
EE	Estland						

## **Neue Substanzbibliothek und damit hergestellte supramolekulare Komplexe**

### **Beschreibung**

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Substanzbibliothek, ein Verfahren zu deren Herstellung, ein Verfahren zur Herstellung von supramolekularen Komplexen unter Verwendung dieser Substanzbibliothek und die Verwendung der mittels der Substanzbibliothek hergestellten supramolekularen Komplexe sowie die Verwendung der Substanzbibliothek selbst.

Kombinatorische Strategien sind wichtige Ansätze in der Suche nach neuen Wirkstoffen, besonders im Hinblick auf die Auffindung von Leitstrukturen sowie deren Optimierung: Man synthetisiert Ensembles strukturell verwandter Verbindungen simultan und meist automatisiert; die hierbei anfallenden Gemische (sog. Bibliotheken) enthalten Hunderte, Tausende oder gar Millionen von Einzelverbindungen in jeweils geringer Menge. Wird im Gemisch die Wirksamkeit einer Komponente durch Screening nachgewiesen, so beschränkt sich die weitere Tätigkeit des Chemikers auf die Bestimmung der Identität, da das Syntheseprotokoll ja bekannt ist.

Waren es anfangs vornehmlich Substanzbibliotheken linear konstituierter Moleküle wie Peptide [K.S. Lam, S.E. Salmon, E.M. Hersh, V.J. Hruby, W.M. Kazmierski, R.J. Knapp, Nature 1991, 354, 82-84], so sind es neuerdings die vor allem im Wirkstoffbereich wichtigen "kleinen" Moleküle wie Heterocyclen [L.A. Thompson, J.A. Ellman, Chem. Rev. 1996, 96, 555-600], die im Mittelpunkt des Interesses stehen. Ziel ist die Erzeugung von molekularer Diversität, um die Auffindung von Leitstrukturen bzw. deren Optimierung zu beschleunigen.

Das Charakteristikum der herkömmlichen kombinatorischen Chemie ist, daß die Synthese unter kinetischer Kontrolle abläuft und daß die Variation durch

Synthese von der Selektion getrennt ist. Dies betrifft die in vitro-Evolution von RNA-Aptameren [J.R. Lorsch, J.W. Szostak, Nature 1994, 371, 31-36.] ebenso wie die Rezeptorsuche mit kombinatorischen Methoden [Y. Cheng, T. Suenaga, W.C. Still, J. Am. Chem. Soc. 1996, 118, 1813-1814], dabei wurden zwei kurze Peptidbibliotheken an einem Steroidgerüst aufgebaut und damit irreversibel verknüpft.

Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, durch Bereitstellung einer neuen Art von Substanzbibliothek die Zahl der Bindungsstellen für die mittels einer Substanzbibliothek auf deren Bindungseigenschaften untersuchten Liganden bzw. Substratmoleküle durch reversible Kombination jeweils zweier oder mehrerer gleicher oder verschiedener in der Substanzbibliothek enthaltenen molekularen Spezies gegenüber herkömmlichen Substanzbibliotheken um Größenordnungen zu erhöhen, wobei die Kombination der in der Substanzbibliothek enthaltenen molekularen Spezies erst in Gegenwart des zu untersuchenden Substratmoleküls über die entsprechenden bindenden Wechselwirkungen mit den molekularen Spezies erfolgen soll.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Erfindung ist es, supramolekulare Komplexe bereitzustellen, welche durch die Kombination der in der Substanzbibliothek enthaltenen molekularen Spezies und durch die bindenden Wechselwirkungen mit dem zu untersuchenden Substratmolekül entstehen.

Derartige Substanzbibliotheken und solche supramolekularen Komplexe sollten sich zur Herstellung von Arzneiwirkstoffen, Pflanzenschutzwirkstoffen, Katalysatoren oder zur Diagnose von Krankheiten eignen.

Die eingangs gestellte Aufgabe wird gelöst durch eine Substanzbibliothek, erhältlich durch Koppelung von verschiedenen oder gleichen molekularen Spezies, welche vorzugsweise in einer Substanzbibliothek enthalten sind, an ein molekulares Paarungssystem.

Mittels der Substanzbibliothek gemäß der vorliegenden Erfindung lassen sich supramolekulare Komplexe dadurch herstellen, daß man die Substanzbibliothek einer Wechselwirkung mit einem Substrat aussetzt und den dabei gebildeten supramolekularen Komplex identifiziert und gegebenenfalls isoliert.

Die vorliegende Erfindung betrifft demgemäß auch die Bereitstellung eines so hergestellten supramolekularen Komplexes, der sich beispielsweise zur Herstellung von Arzneistoffen, Pflanzenschutzwirkstoffen, Katalysatoren, zur Diagnose von Krankheiten sowie der Herstellung von entsprechenden Diagnose-Kits eignet.

In gleicher Weise ist auch die Vorstufe dieser supramolekularen Komplexes, nämlich die erfindungsgemäße Substanzbibliothek zur Herstellung von Arzneistoffen, Pflanzenschutzwirkstoffen, Katalysatoren und zur Diagnose von Krankheiten einschließlich zur Herstellung der entsprechenden Diagnose-Kits geeignet.

Im folgenden werden die vorgenannten oder nachfolgend zur Erläuterung der Erfindung sowie in den Patentansprüchen verwendeten allgemeinen Begriffe definiert.

**Molekulare Spezies:** Beispielsweise linearkonstituierte Moleküle wie Peptide, insbesondere Proteine, Peptoide, lineare Oligo- oder Polysaccharide, Nukleinsäuren und deren Analoga, oder beispielsweise Monomere wie Heterocyclen, insbesondere Stickstoffheterocyclen, oder nichtlinearkonstituierte Moleküle wie verzweigte Oligo- oder Polysaccharide oder auch Antikörper.

**Supramolekularer Komplex:** Entsteht durch Assoziation von zwei oder mehreren molekularen Spezies, die durch nicht-kovalente Kräfte zusammengehalten werden.

**Paarungssysteme:** Supramolekulare Systeme nicht-kovalenter Wechselwirkungen, die durch Selektivität, Stabilität und Reversibilität gekennzeichnet sind und deren Eigenschaften bevorzugt thermodynamisch, wie z. B. durch Temperatur, pH-Wert, Konzentration, beeinflußt werden. Beispiele sind bevorzugt Pyranosyl-RNA, CNA, DNA, RNA, PNA.

Wechselwirkungen sind bevorzugt Wasserstoffbrücken, Salzbrücken, Stapelung ("Stacking"), Metalligandierungen, Charge-Transfer-Komplexe und hydrophobe Wechselwirkungen.

**Substanzbibliothek:** Ensemble von sich strukturell unterscheidenden Verbindungen, bevorzugt oligomere oder polymere Peptide, Peptoide, Saccharide, Nucleinsäuren, Ester, Acetale oder Monomere wie Heterocyclen, Lipide, Steroide.

**Substrat:** Moleküle, bevorzugt Arzneistoffe und Pflanzenschutzwirkstoffe, Metaboliten, physiologische Botenstoffe, Derivate von Leitstrukturen, Substanzen, die im menschlichen oder tierischen Körper im Fall von krankhaften Veränderungen produziert oder im erhöhten Maß produziert werden, Übergangszustandanaloga oder auch Peptide, insbesondere Proteine, Peptoide, lineare Oligo- oder Polysaccharide, Nukleinsäuren und deren Analoga, oder beispielsweise Monomere wie Heterocyclen, insbesondere Stickstoffheterocyclen, oder nichtlinearkonstituierte Moleküle wie verzweigte Oligo- oder Polysaccharide oder auch Antikörper sowie Substanzbibliotheken, zudem Angriffspunkte von Pharmaka, vorzugsweise Rezeptoren, spannungsabhängige Ionenkanäle, Transporter, Enzyme und Biosynthese-Einheiten von Mikroorganismen.

**Übergangszustandanaloga:** Molekulare synthetische Spezies, die dem anzunehmenden Übergangszustand einer chemischen Reaktion strukturell ähnlich, aber im Gegensatz dazu stabil sind.

Identifizierung kann Isolierung oder Charakterisierung des supramolekularen Komplexes beinhalten, bevorzugt aber Unterscheidung anhand der besonderen Eigenschaften des supramolekularen Komplexes aus an Paarungssystemen gekoppelten Substanzbibliotheken und Substrat, bevorzugt unterschiedliches chromatographisches, elektrophoretisches, spektroskopisches oder Signal- (Markierungs-) Verhalten im Vergleich zu nicht-komplexierten Spezies oder durch kovalente (chemische) Fixierung der an der Komplexbildung beteiligten Spezies.

CNA: Cyclohexylnucleooligo-Amid; stellt eine synthetische Variante der DNA-Struktur dar, bei welcher das Phosphat-Zucker-Rückgrat durch 2-(3-Aminocyclohexyl)-ethansäureeinheiten ersetzt ist, wobei die Einheiten peptidartig miteinander verknüpft sind und die 3-Amino-Cyclohexylsubstituenten in Position 4 jeweils mit einer Nukleobase versehen sind.

Vorzugsweise zeichnet sich die Substanzbibliothek gemäß der vorliegenden Erfindung dadurch aus, daß das Paarungssystem aus einem längeren und zwei kürzeren Basensträngen besteht, wobei die beiden kürzeren Stränge an unterschiedlichen Stellen komplementär zum längeren Strang, jedoch zueinander nicht komplementär sind und wobei im Falle der Basenpaarung mit dem längeren Strang zwischen den kürzen Strängen eine Lücke von wenigstens einer Base verbleibt, während im Bereich dieser Lücke entsprechend deren Größe auf dem längeren Strang mindestens eine Base ungepaart bleibt, wobei jeweils diejenigen Basen der beiden kürzeren Stränge, die sich am Anfang bzw. am Ende der Paarungslücke befinden, über einen Linker mit jeweils einer molekularen Spezies verknüpft sind, während mindestens eine der ungepaarten Basen des längeren Stranges mit einer molekularen Spezies über einen Linker verknüpft ist.

Peptide unterschiedlicher Eigenschaften können beispielsweise durch Verknüpfung mit paarenden Oligonucleotid-Enden kontrolliert zu Zweier- oder

Dreiergruppen reversibel zusammentreten. Damit werden im Experiment durch die Vielzahl von Kombinationsmöglichkeiten um Größenordnungen mehr verschiedene Bindungsstellen erzeugt, als Peptide synthetisiert wurden.

Die Verwirklichung des Prinzips der kombinatorischen Variation und Selektion unter thermodynamischer Kontrolle sowie deren Verknüpfung stellt einen elementaren Technologiesprung in der kombinatorischen Methodik dar: Erst in Gegenwart des Substrats bildet sich durch Kombination der zugehörige Rezeptor.

Dieser Rezeptor reagiert somit auf die Gegenwart des Substrats: Setzt man dieses einem Antigen gleich, so kann das vorliegende System in Analogie als "künstliches Immunsystem" betrachtet werden.

Die Natur hat eine bemerkenswerte Anzahl von Molekülen hervorgebracht, welche die komplexen Prozesse der lebenden Organismen ausführen - von der Immunantwort und Katalyse bis zur Signalübertragung. Dabei greift sie auf eine breite kombinatorische Bibliothek von Vorläufermolekülen zurück und überprüft diese auf die gewünschten Eigenschaften. Das wahrscheinlich bedeutendste Beispiel für diese Strategie stellt das Immunsystem dar, welches eine enorme molekulare Diversität erzeugen kann und diese auf hochaffine und selektive Rezeptoren für fremde Antigene durchsucht. Auch das Zusammentreten an sich nicht oder nur schwach bindender Moleküle zu einem stabilen Bindungskomplex ist ein in der Natur verbreitetes Prinzip (Heteromere [D.E. Clapham, Nature 1996, 379, 297-299]) , dessen Bedeutung für die Anwendung in der kombinatorischen Chemie noch nicht erkannt wurde.

Fig 1. zeigt schematisiert den Aufbau und den Ablauf der Bildung eines solchen Rezeptors: An einem beispielsweise aus 13 Monomerbausteinen aufgebauten Oligonucleotid wird über eine Linkereinheit eine kurze Peptidkette (als Bibliothek) am Mittelbaustein kovalent angebunden. Analog wird an den beiden



Endeinheiten der kurzen Oligonucleotide aus 6 Monomereinheiten vorgegangen.

Wird nun diesen drei Einheiten das Substrat (Ellipse) angeboten, so setzt ein Wettbewerb um die beste Bindung der Peptidteile an das Substrat ein: Die Paarung zwischen den Oligonucleotiden sorgt für räumliche Annäherung der peptidischen Teile. Entscheidend ist die Reversibilität der Einzelschritte, wodurch die einzelnen Peptidbereiche solange ausgetauscht werden, bis der stabilste Komplex gefunden wurde. Dieser unter thermodynamischer Kontrolle ablaufende Vorgang entspricht einem selbsttätigen experimentellen „Molecular Modelling“. In einem solchen Experiment wird tatsächlich die Gesamtheit der möglichen transient auftretenden Kombinationen der drei Bibliotheken der Selektion unterworfen. Dieser Austauschvorgang ist temperaturabhängig, d. h. bei höherer Temperatur werden die einzelnen Stränge öfter ausgewechselt, zugleich werden aber auch die Wechselwirkungen der Peptidteile mit dem Substrat schwächer.

Nach Einfrieren des Gleichgewichts, kovalentes Cross-Linking der Paarungspartner, Isolierung und Dekomplexierung wird der Rezeptor in freier Form erhalten.

Es wurde daher ein Verfahren zur Herstellung supramolekularer Komplexe ausgearbeitet, dadurch gekennzeichnet, daß man Verbindungsbibliotheken an Paarungssysteme koppelt.

Die mit den nachfolgenden Verfahren unter thermodynamischer Kontrolle hergestellten und gekoppelt unter thermodynamischer Kontrolle selektierten supramolekularen Komplexe kommen dann zum Einsatz, wenn Moleküle oder Molekülbereiche erkannt werden sollen. Der Vorteil liegt darin, daß die immer gleichen Bibliotheken in Kombination immer neue Selektionsprobleme sehr schnell lösen können.

Diese sind vor allem:

- a) Molekulare Erkennung biologisch relevanter Substanzen, d. h. Diagnostik. Gerade die Entwicklung diagnostischer Methoden muß mit der Vielfalt der zu erkennenden Substrate, wie Metaboliten oder z. B. sich ständig mutierenden Erregern, Schritt halten, sodaß der Nutzen dieses Verfahrens offensichtlich wird.
- b) Molekulare Erkennung biologisch relevanter Substanzen, d. h. Drug Design. Das beschriebene Verfahren erzeugt hochselektive supramolekulare Komplexe, die selbst als Wirkstoffe oder als Modelle für die Wirkstoffentwicklung dienen, indem sie zum Beispiel an pharmakologische Rezeptoren binden und damit stimulieren oder blockieren. Auf der anderen Seite dienen die supramolekularen Komplexe als Rezeptoren in der Wirkstoffentwicklung, da mit ihrer Hilfe ein Wechselwirkungsprofil der Wirkstoffe erstellt werden kann.
- c) Thermodynamisch kontrollierte Konstitution von katalytisch aktiven supramolekularen Komplexen z. B. dadurch, daß man im Sinne der Verwendung als katalytischer Antikörper [L.C. Hsieh-Wilson, X.-D. Xiang, P.G. Schultz, Acc. Chem. Res. 1996, 29, 164-170] Übergangszustandanaloga als Substrate anbietet.

#### Durchführungsbeispiel 1

Als Paarungssystem wird die Pyranosyl-RNA verwendet (s. Fig. 2), deren Herstellung und Eigenschaften wohlbekannt sind [S. Pitsch, S. Wendeborn, B. Jaun, A. Eschenmoser, Helv. Chim. Acta 1993, 76, 2161-2183]. Ausgehend von D-Ribose und den Nucleobasen Adenin und Thymin werden wie darin beschrieben die kopplungsfähigen Phosphoramidite hergestellt und mit einem Oligonucleotidsynthesizer die gewünschten Hexamer- bzw. Tridecamer-Sequenzen hergestellt. Das Tridecamer hat die Sequenz

2'-AATTAAT\*ATATAT, ein Hexamer hat die Sequenz 2'-T\*TAATT-4', das andere Hexamer hat die Sequenz 2'-ATATAT\*-4', wobei T\* den Linker-Nucleotidbaustein darstellt. Der Linker-Nucleotidbaustein wird nach literaturbekannten Methoden ausgehend vom Uracil-Nucleosid synthetisiert: Jodierung [W.-W. Sy, Synth. Commun. 1990, 20, 3391-3394], Umsetzung mit Propargylphthalimid, Hydrierung [K.J. Gibson, S.J. Benkovic, Nucleic Acids Res. 1987, 15, 6455-6467] liefert den gewünschten Baustein. Hydrazinolyse und Jodacetylierung des Oligonucleotides erfolgt wie in der Literatur beschrieben [T. Zhu, S. Stein, Bioconjugate Chem. 1994, 5, 312-315]. Als Verbindungsbibliotheken werden Tetrapeptide ausgehend von kommerziell erhältlichen Aminosäuremonomeren mit einem multiplen Peptidsynthesizer hergestellt, wobei N-terminal als Linker-Einheit ein Cysteinrest vorgesehen wird. Man teilt die Bibliothek in drei Portionen und läßt in wäßriger, gepufferter Lösung bei Raumtemperatur jeweils mit den zwei Hexamer-Sequenzen bzw. der Tridecamer-Sequenz zu den gewünschten Konjugaten reagieren, die mittels Reverse Phase-Chromatographie gereinigt werden [T. Zhu, S. Stein, Bioconjugate Chem. 1994, 5, 312-315]. Die Paarung der komplementären Einheiten wird anhand der Abnahme der UV-Extinktion im Paarungsexperiment nachgewiesen.

#### Durchführungsbeispiel 2

##### Festphasensynthese eines CNA-Pentamers (Fig. 4)

Die Synthese des CNA-Oligomers erfolgte analog zur Peptid- oder Oligonucleotidsynthese, durch schrittweisen Einbau einzelner Bausteine an fester Phase. Dabei wurden die notwendigen Reagenzien im Überschuß zugesetzt und nicht umgesetzte Mengen durch einfache Waschschrte wieder entfernt. Als polymerer Träger wurde ein Polyoxyethylen-(POE)-Polystyrol-Copolymer (Tentagel S HMB, 0,23 mmol/g) verwendet, das sowohl in wäßriger Lösung als auch in organischen Lösungsmitteln gute Quelleigenschaften besitzt.

Die Aminoethylfunktionen des Polymers waren mit einem Hydroxymethylbenzoyl-(HMB)-Linker derivatisiert; die Beladung mit dem ersten Baustein erfolgte unter Verwendung eines 5-fachen Überschusses nach der Methode des symmetrischen Anhydrids (Zugabe von 2,5 eq DIC) und durch Zusatz des Acylierungskatalysators DMAP (2,5 eq) innerhalb von 20 h in DCM. Die erhaltene Beladung betrug 0,17 mmol/g. Die Boc-Schutzgruppe der Aminofunktion wurde mit 50 % TFA in DCM abgespalten, anschließend wurde das Harz mit 1 M DIEA/DMF neutralisiert. Die nachfolgenden Zyklen bestanden aus repetitiver Kupplung des nächsten Monomeren und Abspaltung der Boc-Schutzgruppe. Die Kupplungen erfolgten nach Voraktivierung des Monomer-Bausteins (3 eq.) mit dem Aktivierungsreagenz HATU (3 eq.) in DMF (40  $\mu$ l) und unter Zusatz von 1 M DIEA/DMF (6 eq.) und 2 M Lutidin/DMF (12 eq.). Die Kupplungszeiten betrugen 3-4 h bei Raumtemperatur. Nach vier Kupplungszyklen wurden die N-terminale Boc-Schutzgruppe abgespalten und das Pentamer mit 2 N NaOH in Methanol innerhalb von 15 min vom Harz gespalten. Die Abspaltungslösung wurde vom Harz abfiltriert und 2 Std. bei 55°C gehalten. Nach Neutralisation mit 2 N HCl erfolgte die Aufreinigung mit C18-RP-HPLC (Hibar Fertigsäule 250-4, RP-18,5  $\mu$ m) mit Gradientenelution (1 ml/min) von 10 % auf 40 % B in 30 min (Lösungsmittel A: Wasser + 0,1 % TFA, B: Acetonitril + 0,1 % TFA).

Die Synthese von CNA(AATAT) wurde mit 10 mg (1,7  $\mu$ mol) Tentagel-HMB-Harz durchgeführt, das mit (S)-CNA-Thymin-Monomerbaustein beladen war. Es handelte sich ausschließlich um CNA-Bausteine mit S-Konfiguration. Die Abfolge der Sequenz von links nach rechts entspricht der in der Peptidchemie üblichen Schreibweise von N- zum C-Terminus.

CNA (AATAT): HPLC : Rt = 14,30 min; UV:  $\lambda_{\text{max}}$  = 264 nm; ESI-MS:

$[M+H]^+_{\text{calc}}$  1362,0,  $[M+2H]^{2+}_{\text{calc}}$  681,0;  $[M+H]^+_{\text{exp}}$  1361,8,  $[M+2H]^{2+}_{\text{exp}}$  681,5.

Nach Entsalzung des CNA-Pentamers CNA (AATAT) wurden auf einem Perkin Elmer Lambda 2 UV-VIS Spektrometer die temperaturabhängigen Extinktionen bei 265 nm bei sechs verschiedenen Konzentrationen über einen Bereich von 0

bis 80°C gemessen (1,5-50 µM in TrisHCl Puffer bei pH 7,0). Die erste Ableitung dieser reversiblen, sigmoiden Umwandlungskurven ergibt die Schmelztemperatur ( $T_m = 42^\circ\text{C}$  bei 13 µM) (Fig. 5).

- Festphasensynthese eines Peptid-CNA-Konjugates

Das oben beschriebene CNA-Pentamer wurde vor der Abspaltung vom Harz um eine Dipeptidbibliothek am N-Terminus verlängert. Die Sequenz lautet XO-CNA(AATAT). X stellt eine Mischposition dar, in der die fünf L-Aminosäuren Alanin, Asparaginsäure, Leucin, Lysin und Serin variiert werden. O stellt eine definierte Position dar, wobei für diese Subbibliothek O = L-Lysin gewählt wurde. Die Kupplung von Boc-Lys(Fmoc)-OH an das Boc-entschützte CNA-Pentamer CNA(AATAT) erfolgte nach Voraktivierung des Aminosäure-Bausteins (6 eq.) mit dem Aktivierungsreagenz HATU (6 eq.) in DMF und unter Zusatz von 1 M DIEA/DMF (7 eq.). Die Kupplungszeit betrug 3 h. Die Einführung der X-Position erfolgte nach der Split-Resin-Methode. Nach Abspaltung der N-terminalen Boc-Schutzgruppe wurde die Harzmenge (5 mg) mit 100 µl DMF:DCM (1:1) versetzt und in fünf gleichgroße Portionen zu je 20 µl aufgeteilt. Die Kupplung der einzelnen Aminosäuren erfolgte parallel in separaten Reaktionsgefäßen mit je ca. 1 mg Oligomerharz. Die einzelnen Boc-geschützten Aminosäuren, Boc-Ala-OH, Boc-Asp(OFm)-OH, Boc-Leu-OH, Boc-Ser-OH und Boc-Lys(Fmoc)-OH wurden in 50-fachem Überschuß nach Voraktivierung mit HATU (50 eq.) und unter Zugabe von 1 M DIEA/DMF (100 eq.) 3 h bei Raumtemperatur gekuppelt. Nach Abspaltung der N-terminalen Boc-Schutzgruppen wurde die Fmoc-Schutzgruppen mit 40 % Piperidin/DMF (20 min) entfernt. Die Peptid-CNA-Oligomerkonjugate wurden jeweils mit 2 N NaOH in Methanol innerhalb von 15 min vom Harz gespalten. Die Abspaltungslösung wurde vom Harz abfiltriert und 2 Std. bei 55°C gehalten. Nach Neutralisation mit 2 N HCl erfolgte die Aufreinigung mit C18-RP-HPLC (Hibar Fertigsäure 250-4, RP-18, 5 µm) mit Gradientenelution (1 ml/min) von 10 % B auf 40 % B in 30 min (Lösungsmittel A: Wasser + 0,1 % TFA,

B: Acetonitril + 0,1 % TFA).

HPLC:     Ala-Lys-CNA(AATAT)Rt = 15,47 min  
           Asp-Lys-CNA(AATAT)Rt = 15,30 min  
           Leu-Lys-CNA(AATAT)Rt = 16,08 min  
           Lys-Lys-CNA(AATAT)Rt = 15,34 min  
           Ser-Lys-CNA(AATAT)Rt = 15,29 min

ESI-MS:   Ala-Lys-CNA(AATAT)  $[M+H]^+$  <sub>calc</sub> 1561,6;  $[M+H]^+$  <sub>exp</sub> 1561,4  
           Asp-Lys-CNA(AATAT)  $[M+H]^+$  <sub>calc</sub> 1605,7;  $[M+H]^+$  <sub>exp</sub> 1605,3  
           Leu-Lys-CNA(AATAT)  $[M+H]^+$  <sub>calc</sub> 1603,8;  $[M+H]^+$  <sub>exp</sub> 1603,4  
           Lys-Lys-CNA(AATAT)  $[M+H]^+$  <sub>calc</sub> 1619,3;  $[M+H]^+$  <sub>exp</sub> 1619,0  
           Ser-Lys-CNA(AATAT)  $[M+H]^+$  <sub>calc</sub> 1577,7;  $[M+H]^+$  <sub>exp</sub> 1578,7

Nach Charakterisierung der Einzelkomponenten wurden die HPLC-Fraktionen vereinigt. Nach Entsalzung der Peptidbibliotheks-CNA-Oligomeren XLys-CNA(AATAT) wurden auf einem Perkin Elmer Lambda 2 UV-VIS Spektrometer die temperaturunabhängigen Extinktionen bei 265 nm bei 50  $\mu$ M über einen Bereich von 0-60°C gemessen (in TrisHCl Puffer bei pH 7,0). Die erste Ableitung dieser Temperaturkurve ergibt die Schmelztemperatur ( $T_m$  = 7°C bei 50  $\mu$ M) (Fig. 6). Die UV-Spektren von XLys-CNA(AATAT) bei 0°C und 60°C unterscheiden sich in qualitativ gleicher Weise wie das Pentamer ohne Bibliothek CNA(AATAT). Die Wellenlänge des Absorptionsmaximums verschiebt sich von 261,4 nm ( $E$  = 0,3427) bei 0°C zu 263,8 nm ( $E$  = 0,3626) bei 60°C und belegt damit die Existenz der supramolekularen Komplexe, d.h. einer äquilibrierenden kombinatorischen Bibliothek (Fig. 7.).

Hierbei bedeuten

Boc           tert.-Butyloxycarbonyl  
 DCM          Dichlormethan  
 DIC          Diisopropyl-Carbodiimid

## 13

DIEA	Diisopropylethylamin
DMAP	Dimethylaminopyridin
DMF	Dimethylformamid
Fmoc	Fluorenylmethyloxycarbonyl
HATU	O-[7-Azabenzotriazol-1-yl]-1,1,3,3- Tetramethyluroniumhexafluorophosphat
TFA	Trifluoressigsäure

**Patentansprüche:**

1. Substanzbibliothek, erhältlich durch Koppelung von verschiedenen oder gleichen molekularen Spezies an ein molekulares Paarungssystem.
2. Substanzbibliothek nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die molekularen Spezies in einer Substanzbibliothek enthalten sind.
3. Substanzbibliothek nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Paarungssystem eine Nukleinsäure ist.
4. Substanzbibliothek nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Paarungssystem eine DNA ist.
5. Substanzbibliothek nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Paarungssystem eine RNA ist.
6. Substanzbibliothek nach Anspruch 3, dadurch gekennzeichnet, daß das Paarungssystem eine Pyranosyl-RNA ist.
7. Substanzbibliothek nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Paarungssystem eine PNA ist.
8. Substanzbibliothek nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, daß das Paarungssystem eine CNA ist.
9. Substanzbibliothek nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die molekularen Spezies linearkonstituierte Moleküle sind.



10. Substanzbibliothek nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die molekularen Spezies Peptide sind.
11. Substanzbibliothek nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die molekularen Spezies Peptoide sind.
12. Substanzbibliothek nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 9, dadurch gekennzeichnet, daß die molekularen Spezies Oligo- oder Polysaccharide sind.
13. Substanzbibliothek nach Anspruch 9, dadurch gekennzeichnet, daß die molekularen Spezies Nukleinsäuren oder deren Analoga sind.
14. Substanzbibliothek nach einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß die molekularen Spezies Monomere sind.
15. Substanzbibliothek nach einem oder mehreren der Ansprüche 3 bis 8, dadurch gekennzeichnet, daß das Paarungssystem aus einem längeren und zwei kürzeren Basensträngen besteht, wobei die beiden kürzeren Stränge an unterschiedlichen Stellen komplementär zum längeren Strang, jedoch zueinander nicht komplementär sind und wobei im Falle der Basenpaarung mit dem längeren Strang zwischen den kurzen Strängen eine Lücke von wenigstens einer Base verbleibt, während im Bereich dieser Lücke entsprechend deren Größe auf dem längeren Strang mindestens eine Base ungepaart bleibt, wobei jeweils diejenigen Basen der beiden kürzeren Stränge, die sich am Anfang bzw. am Ende der Paarungslücke befinden, über einen Linker mit jeweils einer molekularen Spezies gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1, 2 und 9 bis 14 verknüpft sind, während mindestens eine der ungepaarten Basen des längeren Stranges mit einer molekularen Spezies gemäß einem oder

## 16

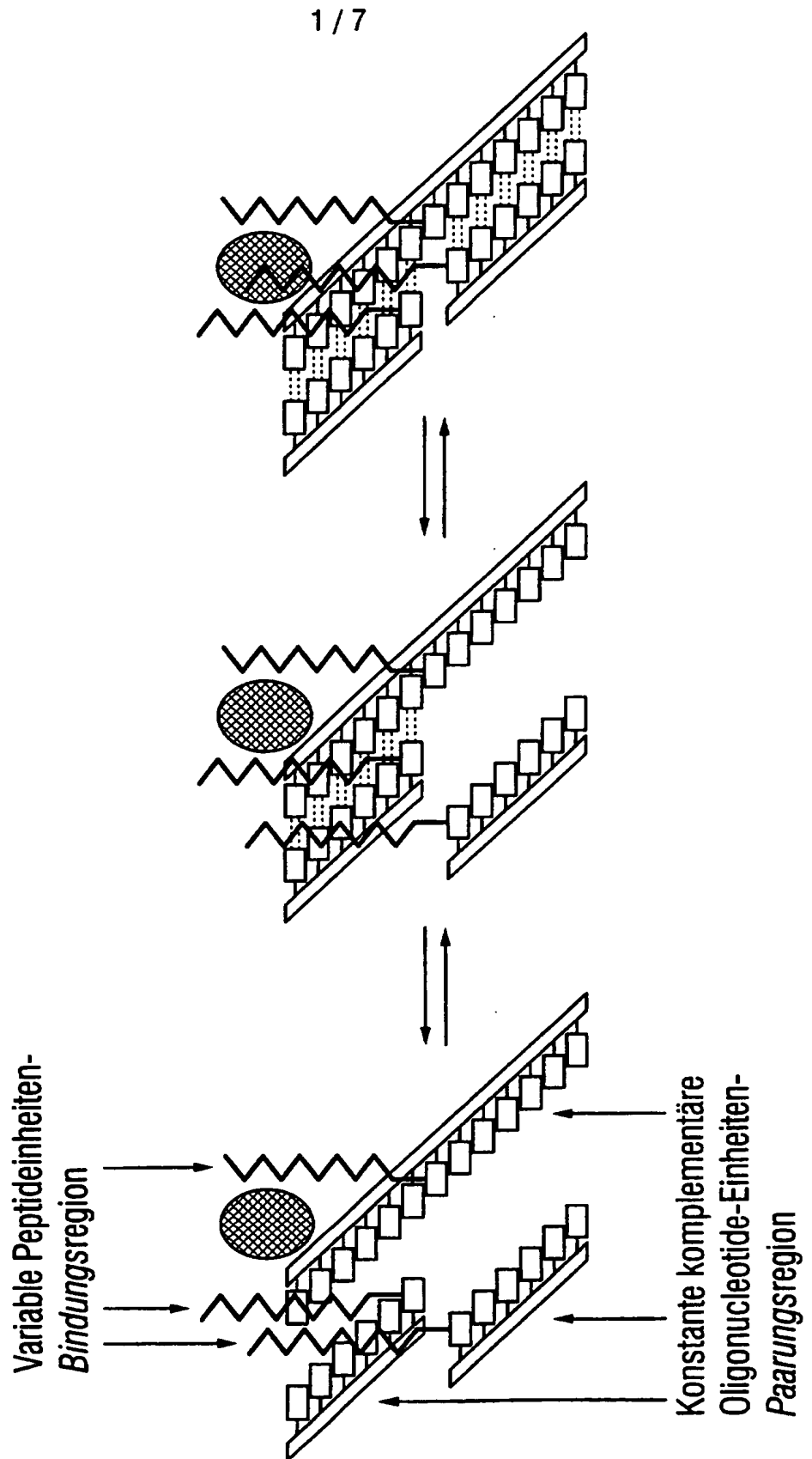
mehreren der Ansprüche 1, 2 und 9 bis 14 über einen Linker verknüpft ist.

16. Verfahren zur Herstellung eines supramolekularen Komplexes, dadurch gekennzeichnet, daß man eine Substanzbibliothek gemäß einem der Ansprüche 1 bis 15 einer Wechselwirkung mit einem Substrat aussetzt und den dabei gebildeten supramolekularen Komplex identifiziert und gegebenenfalls isoliert.
17. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein Peptid ist.
18. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein Peptoid ist.
19. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein Oligo- oder Polysaccharid ist.
20. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat eine Nukleinsäure oder deren Analogon ist.
21. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein Arzneistoff ist.
22. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein Pflanzenschutzwirkstoff ist.
23. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein Analogon eines oder mehrerer Moleküle im Übergangszustand einer chemischen Reaktion ist.

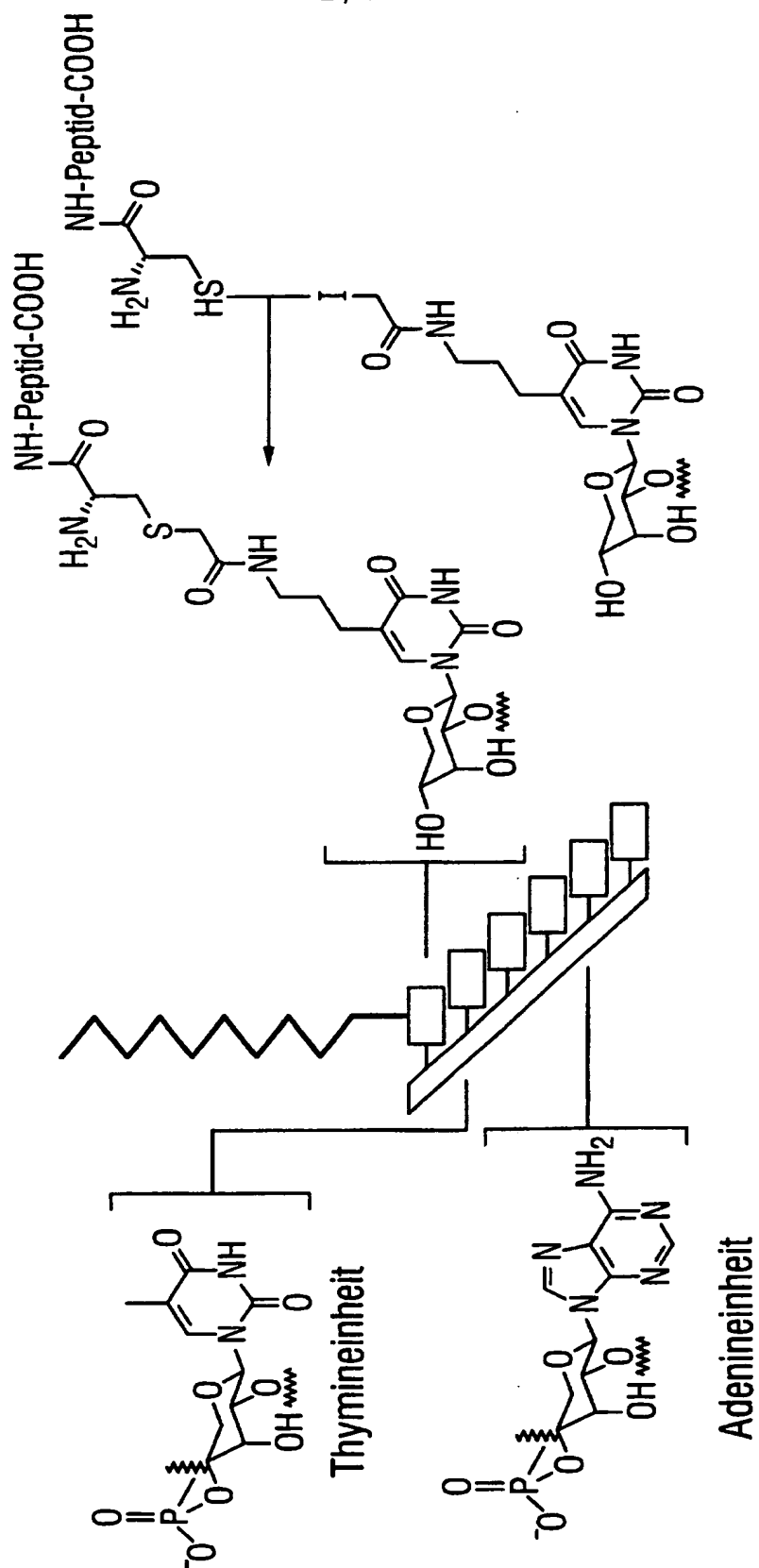
24. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein Metabolit ist.
25. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat ein physiologischer Botenstoff ist.
26. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat eine Substanz ist, welche im menschlichen oder tierischen Körper im Fall von krankhaften Veränderungen produziert oder im erhöhten Maße produziert wird.
27. Verfahren nach Anspruch 16, dadurch gekennzeichnet, daß das Substrat Angriffspunkte von Pharmaka, bevorzugt Rezeptoren, spannungsabhängige Ionenkanäle, Transporter, Enzyme und Biosynthese-Einheiten von Mikroorganismen ist.
28. Supramolekularer Komplex, erhältlich nach einem Verfahren gemäß einem der Ansprüche 16 bis 27.
29. Verwendung eines supramolekularen Komplexes gemäß Anspruch 28 zur Herstellung eines Arzneiwirkstoffes.
30. Verwendung eines supramolekularen Komplexes gemäß Anspruch 28 zur Herstellung eines Pflanzenschutzwirkstoffes.
31. Verwendung eines supramolekularen Komplexes gemäß Anspruch 28 zur Herstellung eines Katalysators.
32. Verwendung eines supramolekularen Komplexes gemäß Anspruch 28 zur Diagnose von Krankheiten.

33. Verwendung eines supramolekularen Komplexes gemäß Anspruch 28 zur Herstellung eines Diagnose-Kits.
34. Diagnose-Kit enthaltend einen supramolekularen Komplex gemäß Anspruch 28.
35. Verwendung einer Substanzbibliothek gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15 zur Diagnose von Krankheiten.
36. Verwendung einer Substanzbibliothek gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15 zur Herstellung eines Diagnose-Kits.
37. Verwendung einer Substanzbibliothek gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15 zur Herstellung eines Katalysators.
38. Verfahren zur Herstellung einer Substanzbibliothek gemäß einem oder mehreren der Ansprüche 1 bis 15, dadurch gekennzeichnet, daß man molekulare Spezies, die verschieden oder gleich sein können, an ein Paarungssystem koppelt.
39. Cyclohexylnucleooligo-Amid enthaltend Aminocyclohexylethansäure-einheiten.

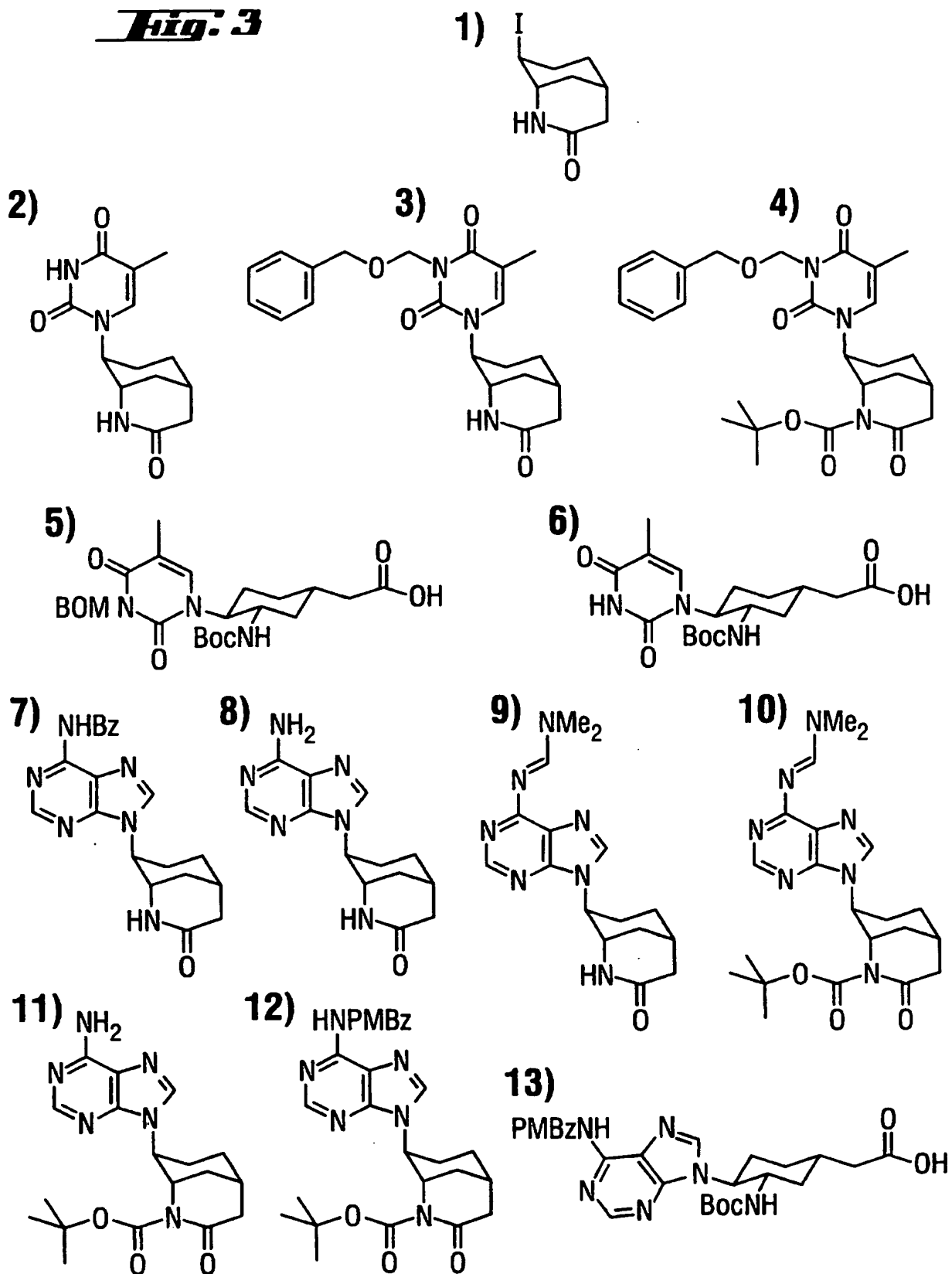
**Fig. 1**



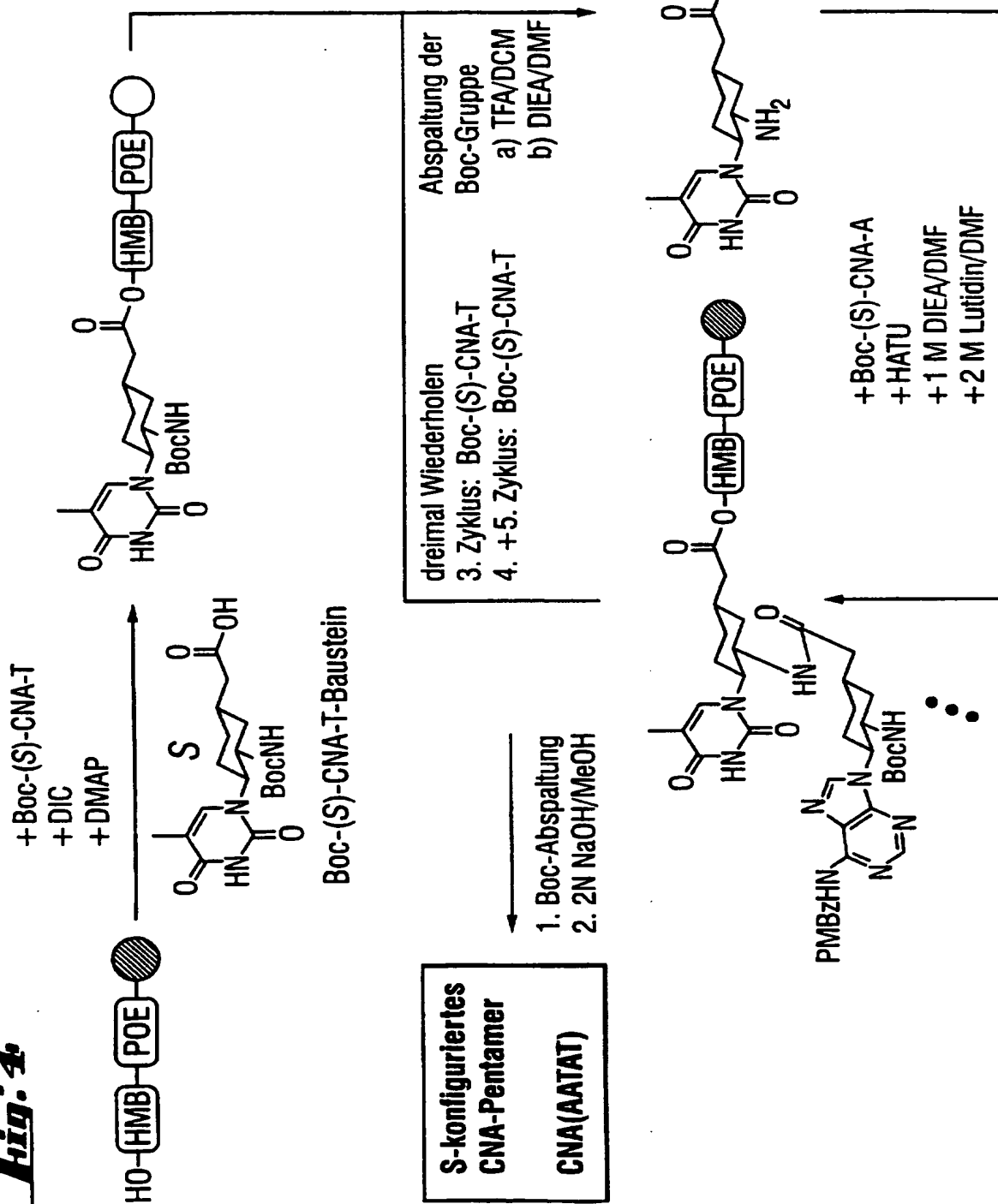
2 / 7

**Fig. 2**

3 / 7

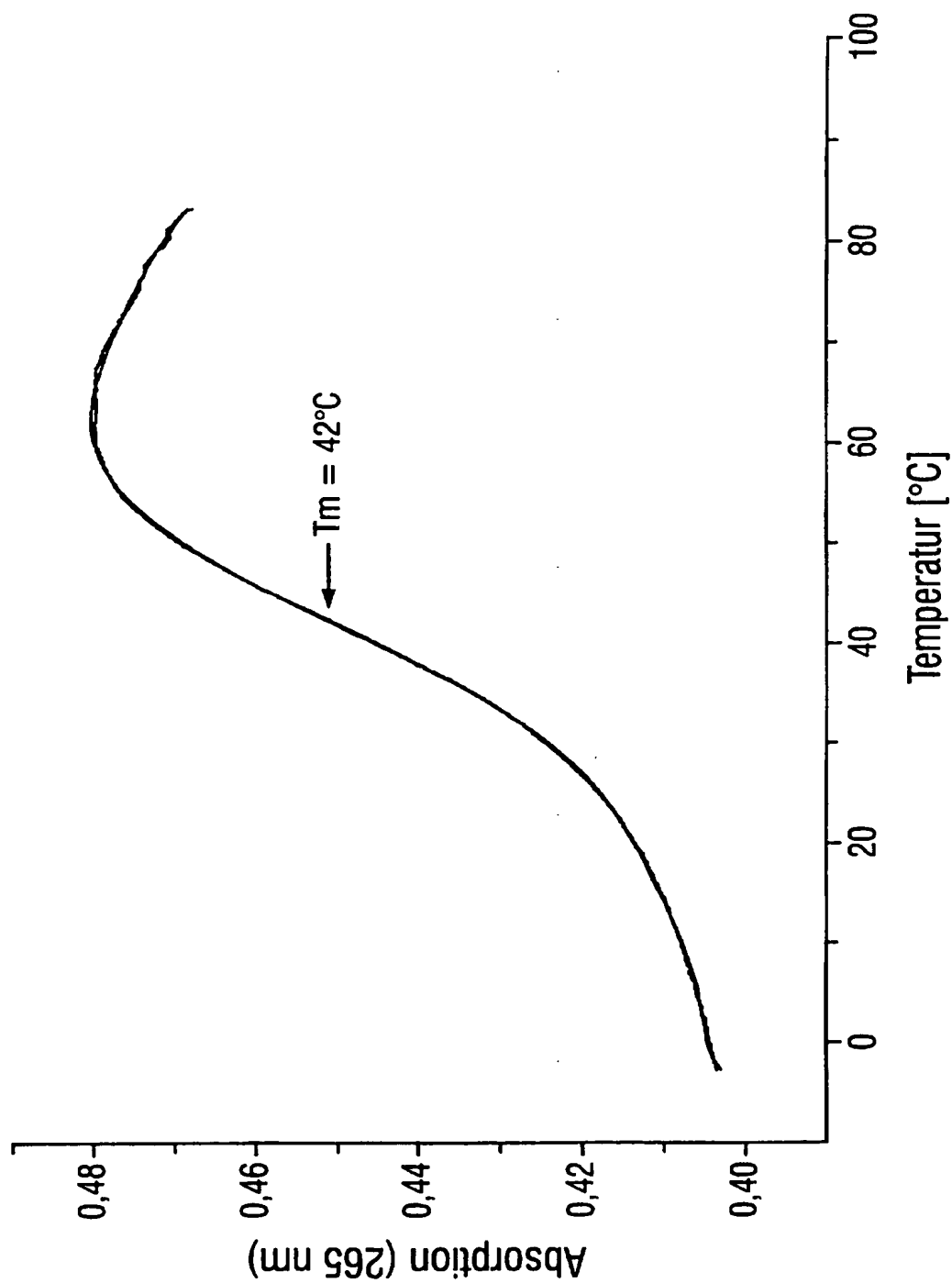
**Fig. 3**

4 / 7

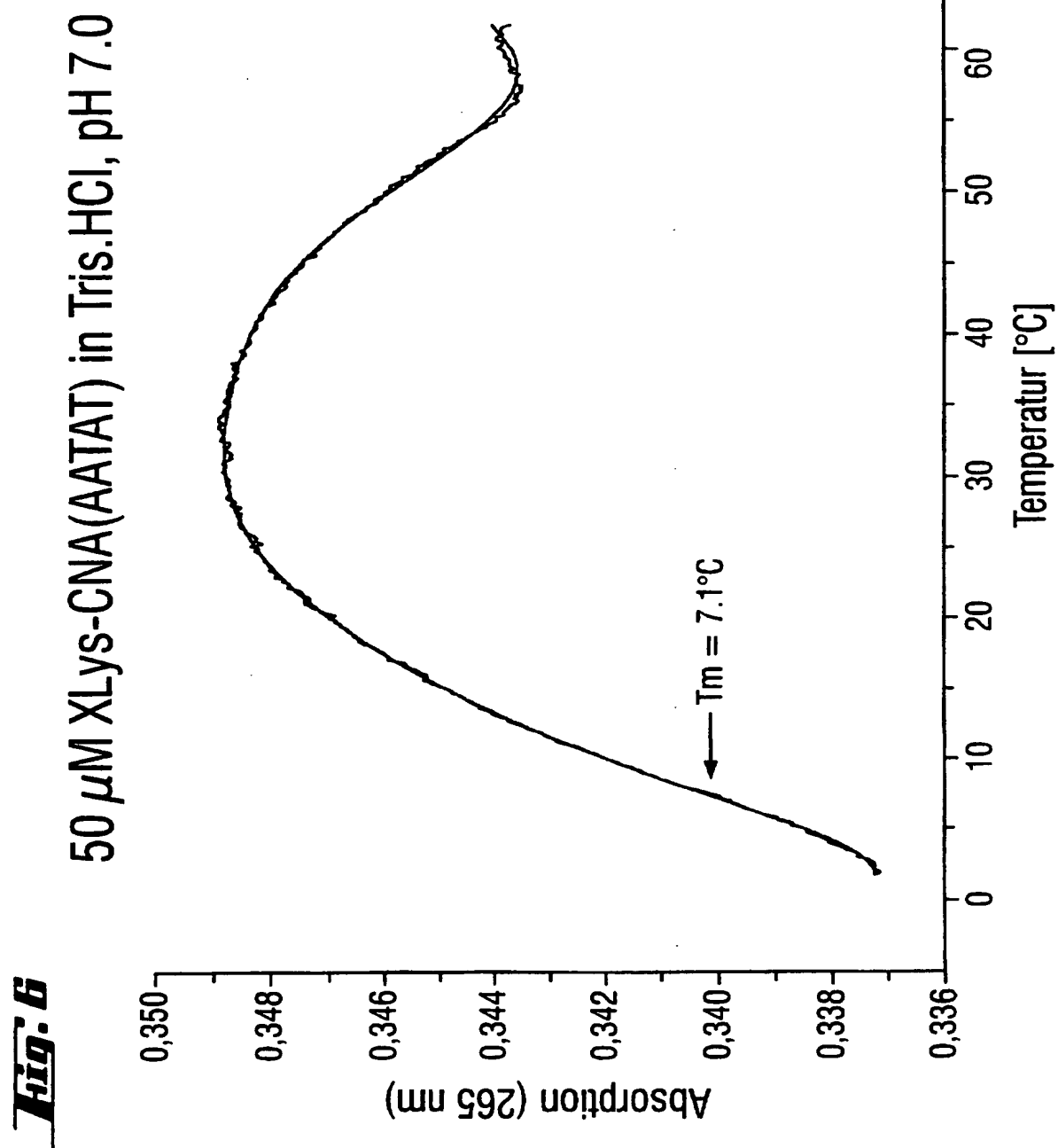
**Fig. 4**



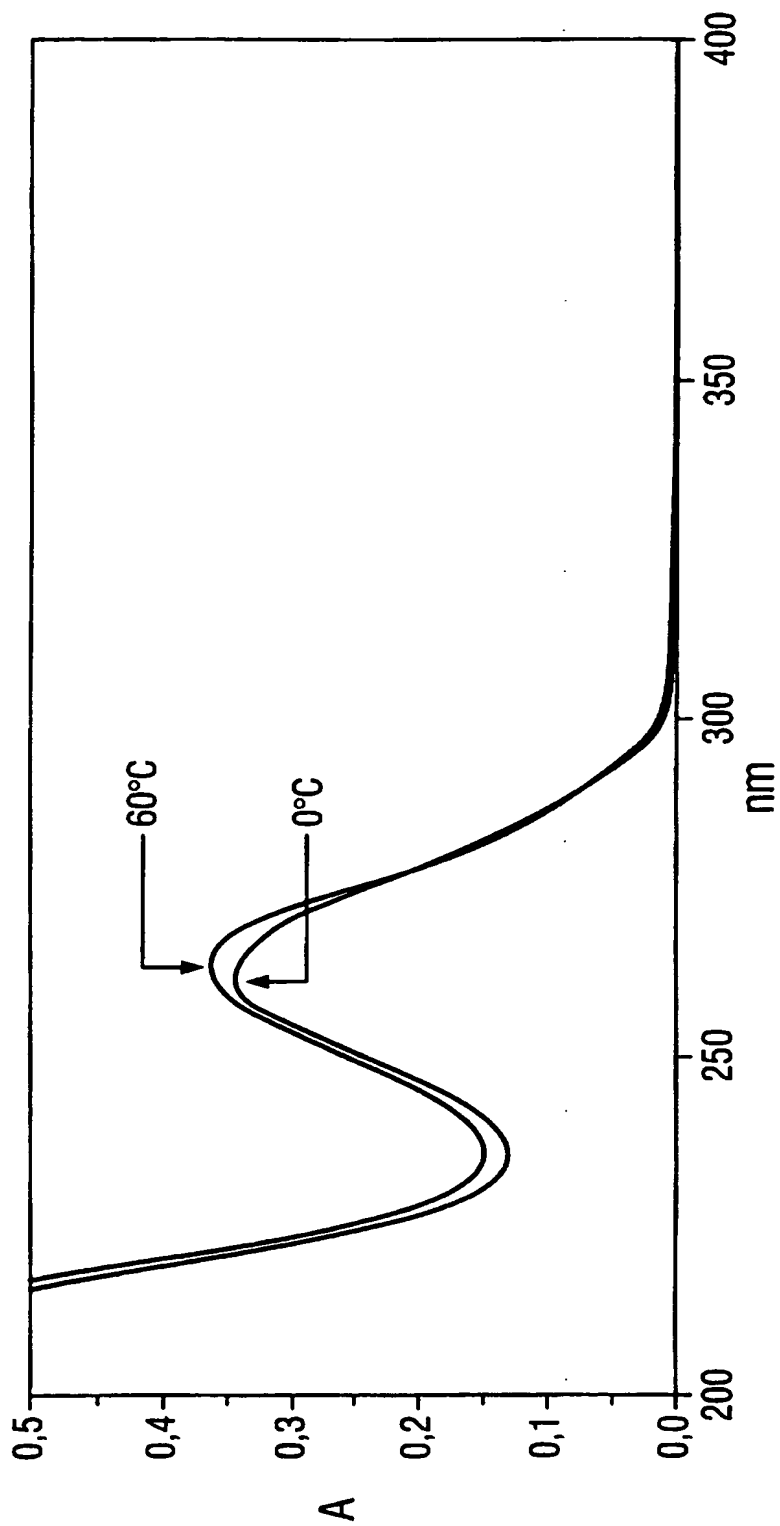
5 / 7

**Fig. 5****13  $\mu$ M CNA(AATAT) in Tris.HCl, pH 7.0**

6 / 7



7 / 7

**Fig. 7**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 97/02387

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER  
IPC 6 C07B61/00 C07K1/04 C07D473/34

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

## B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

IPC 6 C07B C07K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

## C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
A	DE 43 43 591 A (EVOTEC BIOSYSTEMS) 22 June 1995 see the whole document ---	1-38
A	WO 95 19567 A (TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY, NEW YORK) 20 July 1995 see claims ---	1-38
A	JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, vol. 118, no. 7, 21 February 1996, DC US, pages 1813-1814, XP002040585 Y CHENG ET AL: "Sequence-selective peptide binding with a peptido-A,B-trans-steroidal receptor selected from an encoded combinatorial receptor library" cited in the application see the whole document ---	1-38

-/--

☒ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

### \* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \*&\* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

12 September 1997

Date of mailing of the international search report

23.09.97

Name and mailing address of the ISA

European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Wright, M

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International Application No  
PCT/EP 97/02387

## C.(Continuation) DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
P,A	<p>WO 97 00267 A (PENCE) 3 January 1997 see claims</p> <p>-----</p>	1-38

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 97/02387

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE 4343591 A	22-06-95	WO 9517413 A	29-06-95
-----	-----	-----	-----
WO 9519567 A	20-07-95	AU 2156595 A	01-08-95
		CA 2180844 A	20-07-95
		EP 0739486 A	30-10-96
		ZA 9500260 A	28-09-95
-----	-----	-----	-----
WO 9700267 A	03-01-97	AU 6118196 A	15-01-97
-----	-----	-----	-----

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/02387

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 6 C07B61/00 C07K1/04 C07D473/34

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 6 C07B C07K

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
A	DE 43 43 591 A (EVOTEC BIOSYSTEMS) 22.Juni 1995 siehe das ganze Dokument ---	1-38
A	WO 95 19567 A (TRUSTEES OF COLUMBIA UNIVERSITY, NEW YORK) 20.Juli 1995 siehe Ansprüche ---	1-38
A	JOURNAL OF THE AMERICAN CHEMICAL SOCIETY, Bd. 118, Nr. 7, 21.Februar 1996, DC US, Seiten 1813-1814, XP002040585 Y CHENG ET AL: "Sequence-selective peptide binding with a peptido-A,B-trans-steroidal receptor selected from an encoded combinatorial receptor library" in der Anmeldung erwähnt siehe das ganze Dokument ---	1-38

-/--

☒ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- "A" Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- "E" älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- "L" Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- "O" Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- "P" Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

"T" Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

"X" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

"Y" Veröffentlichung von besonderer Bedeutung, die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

"Z" Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

12.September 1997

Absenddatum des internationalen Recherchenberichts

23.09.97

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+ 31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Wright, M

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/02387

C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
P,A	<p>WO 97 00267 A (PENCE) 3.Januar 1997  siehe Ansprüche  -----</p>	1-38



# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 97/02387

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
DE 4343591 A	22-06-95	WO 9517413 A	29-06-95
-----	-----	-----	-----
WO 9519567 A	20-07-95	AU 2156595 A	01-08-95
		CA 2180844 A	20-07-95
		EP 0739486 A	30-10-96
		ZA 9500260 A	28-09-95
-----	-----	-----	-----
WO 9700267 A	03-01-97	AU 6118196 A	15-01-97
-----	-----	-----	-----